

Сравнительное изучение фармакокинетики метаболита тропоксина у различных видов животных и человека

**Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Бочков П.О.,
Шевченко Р.В., Грибакина О.Г., Ганьшина Т.С.**

Лаборатория фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» г. Москва

Резюме. Представлены результаты изучения фармакокинетики метаболита тропоксина (оксима тропинона; М-1) у экспериментальных животных (кролики и крысы) и человека после введения/применения различных доз тропоксина. Сравнительный анализ фармакокинетических параметров, характеризующих интенсивность образования метаболита, у животных и человека выявил следующую закономерность: время достижения C_{\max} метаболита М-1 в плазме крови возрастает в ряду крыса>человек>кролик. Скорость элиминации М-1 замедлялась в ряду крыса>кролик>человек.

Ключевые слова: тропоксин, биотрансформация, оксим тропинона, противомигренозная активность

Pharmacokinetic comparative study of troloxine metabolite in miscellaneous animal species and humans

Zherdev V.P., Kolyvanov G.B., Litvin A.A., Bochkov P.O., Shevchenko R.V., Grybakina O.G., Ganshina T.S.

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow

Resume. Results of pharmacokinetic study of troloxine metabolite (tropinone oxime; M-1) in experimental animals (rats, rabbits) and humans after administration several doses of troloxine. Comparative analysis of the pharmacokinetic parameters characterizing of the metabolite formation intensity, i.e. C_{\max} of metabolite M-1 in the blood plasma increased in series: rats>humans> rabbits. Elimination rate of M-1 was decreased in series: rats>rabbit>human.

Keywords: troloxine, biotransformation, tropinone oxime, antimigraine activity

Автор, ответственный за переписку:

Литвин Александр Алексеевич – д.б.н. ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; e-mail: litbiopharm@yandex.ru

Введение

К наиболее распространённым хроническим нейроваскулярным заболеваниям относится мигрень, которая поражает от 11 до 30% населения разных стран в наиболее работоспособном возрасте. В современном мире количество пациентов с данным заболеванием ежегодно растёт, а имеющиеся в распоряжении неврологов фармакологические препараты не лишены существенных побочных эффектов [1, 6–8].

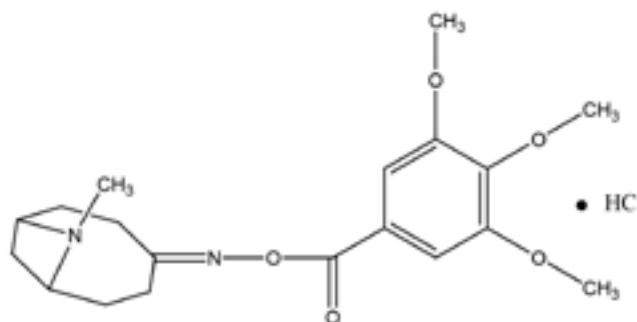
В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» разработано лекарственное средство из группы производных оксима тропинона, обладающее противомигреновой антисеротониновой активностью – тропоксин [2, 4, 5]. При создании новых лекарственных средств необходимым этапом является изучение их фармакокинетики на доклиническом уровне.

Известно, что в организме экспериментальных животных и человека биотрансформация лекарственных средств протекает с различной интенсивностью. Для выявления возможных межвидовых различий и общих закономерностей в фармакокинетике и метаболизме нового лекарственного средства тропоксина изучена его фармакокинетика у крыс, кроликов и здоровых добровольцев.

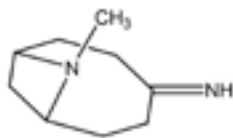
Цель настоящего исследования – изучение межвидовых различий в фармакокинетике основного метаболита тропоксина в организме крыс, кроликов и человека.

Материалы и методы

В качестве стандартных веществ использовали: фармацевтическую субстанцию тропоксина – 3-(3,4,5-триметоксибензоилоксиимино)-8-метил-8-азабицикло-[3,2,1]октана гидрохлорида:



и фармацевтическую субстанцию 3-оксиимино-8-метил-8-азабицикло [3,2,1] октана:



Синтез исследуемых веществ осуществлён в опытно-технологическом отделе ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 200 ± 20 г ($n = 5$), кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,8–3,0 кг ($n = 4$).

Животные получены из питомника «Столбовая» (Московская область), содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» при 12-часовом световом режиме. Работа с животными проводилась с соблюдением международных правил (Директива 86/629/ ЕЕС) и правилами работы с животными, утверждёнными этической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Изучение фармакокинетики на добровольцах (возраст $26,3 \pm 4,6$ лет; масса тела $76,6 \pm 6,4$ кг; рост $168,8 \pm 6,2$ см) проведено в рамках I фазы клинических исследований по стандартизованному протоколу № Т-Ф1 «Открытое исследование I фазы по изучению безопасности, переносимости и фармакокинетики препарата «Тропоксин» таблетки 50 мг у здоровых добровольцев» (Разрешение № 494 от 09.09.2015 г.).

Доза тропоксина у добровольцев (10 человек) составила 50 мг (1 таблетка).

Препарат вводили крысам внутривенно (в/б) в дозе 10 мг/кг, кроликам — внутрь в дозе 30 мг/кг. Образцы крови отбирали через дискретные временные интервалы: у добровольцев через 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0 и 24,0 ч с помощью кубитального катетера, у крыс через 0; 0,08; 0,17; 0,25; 0,33; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0 ч — декапитацией, у кроликов — 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 ч — из краевой ушной вены. Полученные пробы крови центрифугировали на лабораторной центрифуге в течение 15 мин при 1500 г и 4 °С. Отбор плазмы крови проводили в стерильные пластиковые пробирки. Плазму крови хранили при температуре -18 °С.

Концентрации тропоксина и/или его метаболита определяли в образцах плазмы крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [3].

Полученные данные подверглись математической статистической обработке. Расчёт фармакокинетических параметров проводили модельно-независимым методом. Расчёт фармакокинетических параметров у крыс проводили по усреднённым фармакокинетическим профилям.

Результаты и обсуждение

Хроматомасс-спектрометрический анализ всех образцов плазмы крови добровольцев показал, что в анализируемых образцах отсутствует характериче-

ский молекулярный ион, соответствующий неизменной молекуле тропоксина-основания, с $m/z = 363$ (протонированный ион). Однако на масс-спектрограммах зарегистрирован дочерний молекулярный ион с $m/z = 153$, который соответствует метаболиту тропоксина — оксиму тропинона; метаболит М-1). Другими словами, тропоксин после его перорального применения добровольцами подвергается интенсивному процессу биотрансформации, и в плазме крови регистрируются лишь его метаболиты. Поэтому дальнейший фармакокинетический анализ полученных данных производили по основному метаболиту М-1 с $m/z = 153$.

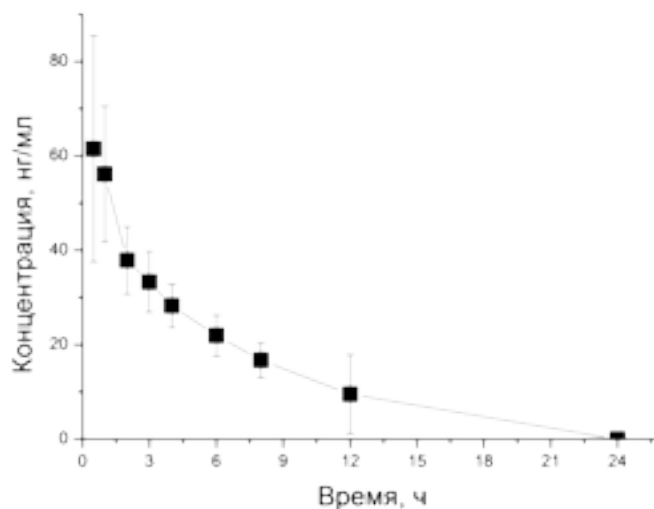


Рис. 1. Усреднённый фармакокинетический профиль метаболита тропоксина М-1 в плазме крови здоровых добровольцев после однократного перорального приёма таблеток тропоксина в дозе 50 мг ($n = 10$; $\bar{x} \pm SD$)

На рис. 1 представлены усреднённые фармакокинетические профили метаболита М-1 тропоксина с $m/z = 153$ в плазме крови добровольцев после однократного перорального приёма таблеток тропоксина в дозе 50 мг.

Из рис. 1 видно, что измеренные концентрации анализируемого вещества представляют собой сильно вариабельные величины (CV% на начальной и на терминальной частях кривой составил выше 30%). Снижение концентраций метаболита лекарственного вещества носит монофазный характер.

Метаболит тропоксина определялся в плазме крови всех 10 добровольцев на протяжении 8 ч и 6 добровольцев — на протяжении 12 ч после приёма препарата.

В табл. 1 представлены фармакокинетические параметры метаболита М-1 тропоксина в плазме крови добровольцев после однократного приёма таблеток тропоксина в дозе 50 мг. Как видно из табл. 1, рассчитанные фармакокинетические параметры представляют собой сильно вариабельные величины. Так, коэффициент вариации (CV%) для C_{\max} составил 32,09 %, T_{\max} — 35,14%, k_{el} — 40,23%.

Таблица 1

**Фармакокинетические параметры метаболита тропоксина М-1 в плазме крови добровольцев
после однократного перорального приёма таблеток тропоксина в дозе 50 мг**

| №/№ | C_{\max} (нг/мл) | T_{\max} (ч) | AUC_T (нг/мл×ч) | $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг/мл×ч) | % экстраполяции | k_{el} (ч ⁻¹) | $t_{1/2}$ (ч) | MRT (ч) |
|-----------|-----------------------|-------------------|----------------------|---|-----------------|--------------------------------|------------------|------------|
| G101 | 78,9 | 0,5 | 307,65 | 431,76 | 28,75 | 0,1305 | 5,31 | 8,83 |
| G102 | 85,8 | 0,5 | 242,40 | 322,62 | 24,87 | 0,2094 | 3,31 | 5,39 |
| G103 | 52,8 | 1,0 | 210,90 | 339,12 | 37,81 | 0,1381 | 5,02 | 7,84 |
| G104 | 81,0 | 1,0 | 360,60 | 528,51 | 31,77 | 0,1126 | 6,16 | 9,92 |
| G105 | 108,6 | 0,5 | 264,60 | 295,23 | 10,37 | 0,2742 | 2,53 | 3,61 |
| G106 | 50,4 | 0,5 | 248,49 | 325,86 | 23,74 | 0,1779 | 3,90 | 4,36 |
| G107 | 74,1 | 0,5 | 340,80 | 439,77 | 22,50 | 0,1455 | 4,76 | 7,62 |
| G108 | 51,0 | 0,5 | 279,99 | 403,59 | 30,63 | 0,1116 | 6,21 | 9,72 |
| G109 | 46,2 | 0,5 | 303,60 | 423,84 | 28,37 | 0,1073 | 6,46 | 9,19 |
| G110 | 43,5 | 0,5 | 315,90 | 595,26 | 46,93 | 0,0677 | 10,25 | 15,04 |
| \bar{x} | 67,23 | 0,6 | 287,49 | 410,56 | 28,75 | 0,1475 | 5,39 | 8,2 |
| SD | 21,58 | 0,2 | 46,74 | 95,95 | 24,87 | 0,0593 | 2,1 | 3,3 |
| CV% | 32,09 | 35,14 | 16,26 | 23,37 | 37,81 | 40,23 | 39,72 | 40,38 |

Примечание: C_{\max} (нг/мл) — максимальная концентрация лекарственного вещества в моче после перорального приёма; T_{\max} (ч) — время достижения максимальной концентрации лекарственного вещества после перорального приёма; k_{el} (ч⁻¹) — константа скорости элиминации; $t_{1/2}$ (ч) — период, за который выводится половина введённой и всосавшейся дозы лекарственного вещества; MRT (ч) — среднее время пребывания лекарственного вещества в организме; $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг/мл×ч) площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой «концентрация лекарственного вещества — время») после перорального приёма. $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ рассчитывается от момента приёма до бесконечности

Время достижения C_{\max} — T_{\max} метаболита тропоксина в плазме крови в среднем составило $0,6 \pm 0,2$ ч, а её величина (C_{\max}) — $67,77 \pm 21,58$ нг/мл. При этом индивидуальные значения T_{\max} метаболита колебались от 0,5 до 1,0 ч. Метаболит достаточно медленно выводится из плазмы крови. Так, период полувыведения ($t_{1/2}$) оксима тропинона в среднем составил $5,39 \pm 2,10$ ч, а его среднее время удерживания в организме (MRT) — $8,2 \pm 3,3$ ч, соответственно. При этом следует отметить, что величину MRT рассчитывали с учётом $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, а вклад экстраполированной части площади под фармакокинетической кривой в величину данного параметра в среднем составил 28,75%. Следовательно, полученные значения MRT нельзя рассматривать, как достоверные.

Площадь под фармакокинетической кривой (AUC_T) метаболита составила $287,49 \pm 46,74$ нг/мл×ч.

Следует отметить, что такие параметры, как общий плазменный клиренс и кажущийся объём распределения для метаболитов лекарственных веществ рассчитать в принципе невозможно, поскольку неизвестна пероральная доза анализируемого вещества (метаболита М-1).

Фармакокинетика метаболита тропоксина в плазме крови крыс после его однократного внутрибрюшинного введения

Изучение фармакокинетики метаболита тропоксина М-1 в плазме крови крыс проводилось после его в/б введения в дозе 10 мг/кг.

Усреднённая фармакокинетическая кривая метаболита тропоксина М-1 в плазме крови крыс представлена на рис. 2. Поскольку на каждую временную точку использовали по 5 животных, результирующая фармакокинетическая кривая была построена по усреднённым концентрациям, поэтому при расчётах фармакокинетических параметров отсутствует статистическая обработка результатов. Фармакокинетические параметры исследуемого вещества после однократного в/б введения представлены в табл. 2.

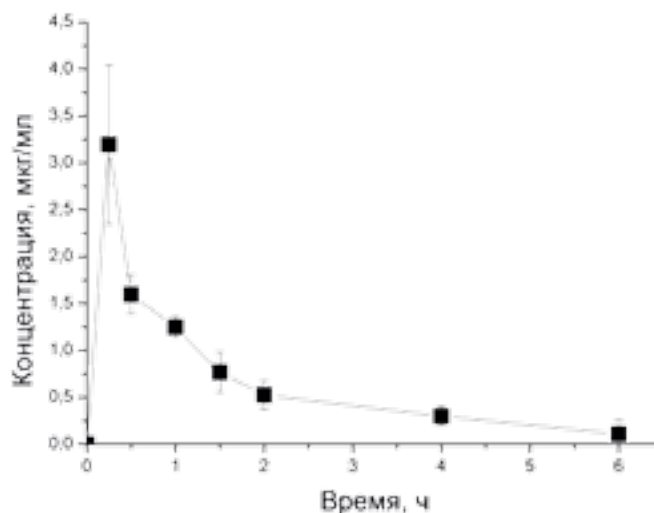


Рис. 2. Фармакокинетический профиль метаболита тропоксина М-1 в плазме крови крыс после однократного в/б введения тропоксина в дозе 10 мг/кг ($n = 5$, $\bar{x} \pm SD$)

Таблица 2

Фармакокинетические параметры метаболита тропоксина М-1 в плазме крови крыс после однократного в/б введения тропоксина в дозе 10 мг/кг

| Параметры | Значения |
|---|----------|
| C_{\max} (мкг/мл) | 3,193 |
| T_{\max} (ч) | 0,25 |
| $AUC_{0 \rightarrow t}$ (мкг/мл×ч) | 3,769 |
| k_{el} (ч ⁻¹) | 0,5181 |
| $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (мкг/мл×ч) | 3,980 |
| $t_{1/2}$ (ч) | 1,34 |
| MRT (ч) | 1,37 |

После в/б введения тропоксина животным метаболит тропоксина определяется в плазме крови на протяжении 6 ч. Учитывая, что период полуэлиминации метаболита не превышал 1,3 ч тропоксин можно отнести к группе лекарственных веществ со средним периодом полувыведения. Об этом так же свидетельствуют такие фармакокинетические параметры, как среднее время удерживания вещества в организме (MRT – 1,4 ч).

Максимальная концентрация (C_{\max}) метаболита тропоксина в плазме крови регистрировалась через 0,25 ч (T_{\max}) после введения препарата, а её величина составила 3,193 мкг/мл.

Фармакокинетика метаболита тропоксина в плазме крови кроликов после его однократного введения внутрь

Изучение фармакокинетики тропоксина проводили на кроликах после однократного введения внутрь субстанции препарата 30 мг/кг (в виде раствора).

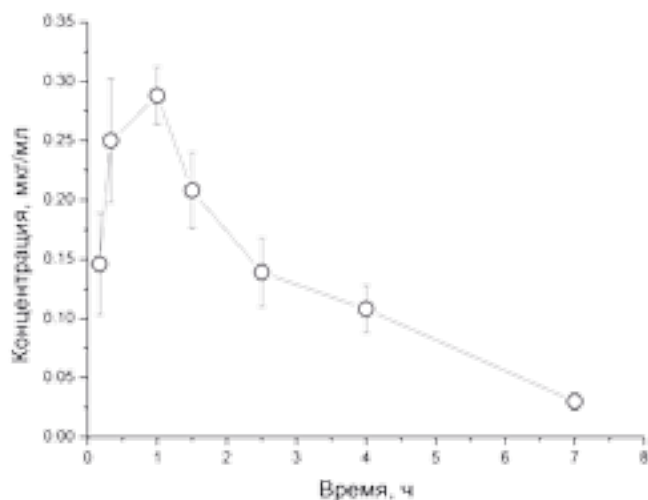


Рис. 3. Усреднённые кривые концентрации метаболита М-1 после однократного введения кроликам субстанции тропоксина в дозе 30 мг/кг ($n = 4$, $\bar{x} \pm SD$)

На рис. 3 представлены усреднённые концентрационные кривые метаболита тропоксина М-1 после однократного введения внутрь кроликам субстанции тропоксина.

В табл. 3 представлены основные фармакокинетические параметры метаболита тропоксина М-1 в плазме крови кроликов после однократного введения субстанции тропоксина в дозе 30 мг/кг.

Таблица 3

Фармакокинетические параметры метаболита тропоксина М-1 в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции препарата в дозе 30 мг/кг

| Параметры | 1 | 2 | 3 | 4 | \bar{x} | SD | CV% |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-----------|-------|-------|
| C_{\max} , мкг/мл | 0,294 | 0,307 | 0,318 | 0,261 | 0,295 | 0,025 | 8,37 |
| T_{\max} , ч | 1,000 | 0,330 | 1,000 | 1,000 | 0,833 | 0,335 | 40,24 |
| AUC_T , мкг/мл×ч | 0,922 | 0,895 | 1,078 | 0,759 | 0,914 | 0,131 | 14,32 |
| k_{el} , ч ⁻¹ | 0,416 | 0,344 | 0,337 | 0,348 | 0,361 | 0,037 | 10,18 |
| AUC_{∞} , мкг/мл×ч | 0,974 | 0,985 | 1,191 | 1,156 | 1,077 | 0,113 | 10,50 |
| $t_{1/2}$, ч | 1,668 | 2,015 | 2,056 | 1,989 | 1,932 | 0,178 | 9,22 |
| MRT, ч | 2,717 | 2,965 | 3,179 | 2,965 | 2,957 | 0,189 | 6,39 |

Установлено, что тропоксин в организме крыс, кроликов и человека метаболизируется с образованием двух основных метаболитов. Биотрансформация тропоксина как у животных, так и человека осуществляется через разрыв сложноэфирной группировки исходной молекулы противомигренозного средства с образованием оксима тропинона с $m/z = 153$ (3-оксиимино-8-метил-8-азабицикло[3,2,1]октан; М-1) и 3,4,5-триметоксибензойной кислоты с $m/z = 213$ (М-2).

Сравнительный анализ фармакокинетических параметров, полученных на экспериментальных животных и добровольцах, проводили по метаболиту М-1.

Сравнение дозозависимых фармакокинетических параметров метаболита М-1 у животных и добровольцев, характеризующих интенсивность образования метаболита в организме, выявило следующие межвидовые различия: у кроликов метаболит М-1 достигает максимальной концентрации (C_{\max}) в плазме крови через 0,83 ч после введения препарата, в плазме крови крыс C_{\max} отмечается уже через 0,25 ч, тогда как T_{\max} у добровольцев составило 0,60 ч.

Таким образом, сравнительный анализ фармакокинетических параметров, характеризующих интенсивность образования метаболита, у животных и человека выявил следующую закономерность: время достижения C_{\max} метаболита М-1 в плазме крови возрастает в ряду крыса > человек > кролик.

Сопоставление фармакокинетических параметров, отвечающих за выведение анализируемого вещества из организма животных и человека показало, что период полувыведения ($t_{1/2}$) метаболита М-1 у человека в 2,8 раз превышал аналогичный параметр, полученный у кроликов, и в 4,0 раза — у крыс.

Величина MRT для крыс составила 1,37 ч, для кроликов — 2,96 ч и для добровольцев — 8,20 ч, соответственно.

Таким образом, сравнительный анализ фармакокинетических параметров у животных и человека выявил следующую закономерность: скорость элиминации оксима тропинона замедляется в ряду крыса>кролик>человек.

Выводы

1. Тропоксин не определяется в плазме крови добровольцев и экспериментальных животных даже в следовых количествах.

2. Сравнительный анализ фармакокинетических параметров, характеризующих интенсивность образования метаболита, у животных и человека выявил следующую закономерность: время достижения Стах метаболита М-1 в плазме крови возрастает в ряду: крыса>человек кролик. Скорость элиминации оксима тропинона замедляется в ряду крыса>кролик>человек.

Литература

1. Амелин А.В., Игнатов Ю.Д., Скоромец А.А. Мигрень (патогенез, клиника, лечение). Санкт-Петербургское медицинское издательство. 2001; 200.
2. Ганьшина Т.С., Горбунов А.А., Гнездилова А.В. и др. Хим.-фарм. журн., 2016; 50 (1), 19–23.
3. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. и др. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2016; 3, 21–25.

4. Косточка Л.М., Мирзоян Р.С., Ганьшина Т.С., Середенин С.Б. Хим.-фарм. журн. 2010; 44 (9), 6–9.
5. Мирзоян Р.С., Середенин С.Б., Ганьшина Т.С. и др. Эксперим. и клин. фармакол. 1998; 61 (2): 28 – 31.
6. Dent W., Stelzhammer B., Meindl M. et al. Headache, 2011; 51 (10): 1483–1492. doi: 10.1111/j. 1526-4610. 2011.
7. Pezzini A., Del Zotto E., Giossi A., et al. Stroke Res. Treatment. 2010; 9; 361–365. doi:10.4061/2011/304921.
8. Rist P.M., Buring J.E., Kase C.S. et al. Circulation. 2010; 122 (24); 2551–2557.